Aus der Universitäts-Augenklinik Marburg a. d. Lahn
Komm. Leiter: Professor Dr. med. M. Reim

Veränderungen der Aminosäurekonzentrationen bei intravitrealem Platinfremdkörper in Glaskörper und Kammerwasser des Kaninchenauges

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg
vorgelegt von

Alf Domeier
aus Minden

Marburg 1973

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Aus der Universitäts-Augenklinik Marburg a.d. Lahn
Komm. Leiter: Professor Dr. med. M. Reim

Veränderungen der Aminosäurekonzentrationen bei intravitrealem Platinfremdkörper in Glaskörper und Kammerwasser des Kaninchenauges

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg
vorgelegt von

Alf Domeier
aus Minden

Marburg 1973

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 12. 6. 1973

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Humanmedizin

Dekan:	Prof. Dr. med. H. Oepen
Referent:	Prof. Dr. med. L. Welge-Lüssen
Correferent:	Prof. Dr. med. M. Reim

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
Übersicht verschiedener chromatographischer Trennverfahren	1
Struktur und Chemie von Glaskörper und Kammerwasser	5
Einfluß intraocularer Fremdkörper auf verschiedene Augengewebe	11
Methodik	17
Ergebnisse	27
Besprechung der Ergebnisse	37
Zusammenfassung	42
Tabellen	I - IV
Literaturverzeichnis	44

ÜBERSICHT VERSCHIEDENER CHROMATOGRAPHISCHER TRENNVERFAHREN

Unter Chromatographie versteht man ein physikalisches Trennverfahren, bei dem sich die zu trennenden Komponenten zwischen zwei Phasen, und zwar einer mobilen Phase und einer stationären Phase, verteilen, und dadurch die Möglichkeit zu ihrer Auftrennung bieten (DORFNER).

Am Beginn der hierhin führenden Entwicklung steht der Bericht von TSWETT (1903) über Adsorptionserscheinungen, die sich bei der Filtration eines Blattextraktes durch eine mit Inulin gefüllte Säule ergaben und denen er die Bezeichnung "chromatographische Methode" gab. REICHSTEIN benutzte 1938 erstmals die von ihm als "flüssiges oder fließendes Chromatogramm" bezeichnete Methode zur Auftrennung farbloser Substanzen, indem er das Eluat in Portionen auffing und die Identifizierung anschloß. 1940 verbesserten TISELIUS und CLAESSEN das Verfahren unter Beibehaltung der Methode des flüssigen Chromatogramms durch die kontinuierliche Messung der Gesamtkonzentration der Lösung beim Ausfließen. Durch GRIESSBACH erfolgte 1938 erstmals die Verwendung von Kunstharzaustauschern in der Chromatographie, wodurch eine nunmehr stürmische Entwicklung eingeleitet wurde. So gelang BOYD ab 1942 unter Verwendung der Kunstharzaustauscher Amberlite IR-1 und IR-4 die Auftrennung von Spaltprodukten des Urans, sowie TOMPKINS deren Reindarstellung.

Etwa zu diesem Zeitpunkt war endgültig der Beweis für die Brauchbarkeit der chromatographischen Methode erbracht.

Unter Beibehaltung des Prinzips: Trennung von Substanzen durch Verteilung zwischen mobiler sowie stationärer Phase und der Verwendung von Gasen oder Flüssigkeiten als

mobiler Phase sowie Flüssigkeiten oder festen Stoffen als stationärer Phase ergaben sich vier verschiedene Arten der Chromatographie (DORFNER):

1) gasförmige mobile, flüssige stationäre Phase
verbunden mit den Bezeichnungen Gas-Liquidus-Chromatographie (GLC) und Verteilungs-Gas-Chromatographie

2) gasförmige mobile, feste stationäre Phase
entsprechende Bezeichnungen: Gas-Solidus-Chromatographie (GSC) und Adsorptions-Gas-Chromatographie,

3) flüssige mobile, flüssige stationäre Phase
Bezeichnungen: Verteilungschromatographie, Säulenchromatographie, Liquid-Liquid-Chromatographie, Papierchromatographie,

4) flüssige mobile, feste stationäre Phase

a) Tswett'sche Chromatographie, Adsorptionschromatographie, Liquid-Solid-Chromatographie (LSC). Diese macht sich die durch Allgemeinadsorption bedingte Verteilung der aufzutrennenden Substanzen zwischen flüssiger und fester Phase zunutze, wobei die flüssige mobile Phase gegen die in der Säule aufgeschichtete, feste stationäre Phase bewegt wird.

b) Ionenaustausch-Chromatographie:
Bei dieser tritt die Austausch-Adsorption (Ionenaustausch) als auftrennendes Moment an die Stelle der Allgemeinadsorption.

Die wichtigsten und charakterisierenden Bestandteile der festen Phase stellen in der Ionenaustauschchromatographie die sog. Ankergruppen dar, und zwar bei Kationenaustauschern ($-SO_3^-H^+$ oder $-COO^-H^+$), bei Anionenaustauschern z.B. ($-NH_3^+OH^-$).
Von diesen Ankergruppen kann nun je ein Ton abdissoziieren. Entfernen kann es sich aber nur, wenn aus Gründen der Elektroneutralität ein anderes Ion gleicher Ladung an seine Stelle tritt. Genau das ist beim Ionenaustausch der Fall: sind z.B. bei einem Kationenaustauscher Na-Ionen in der Lösung, so werden sie locker an die Ankergruppe gebunden und im Austausch H-Ionen in die Lösung abgegeben, bis die Gleichgewichtsreaktion erreicht ist. Wesentliches Merkmal der Ionenaustauschchromatographie ist, daß dementsprechend als Eluens ein Elektrolyt verwendet werden muß.

Bei der Elutionschromatographie, einer der verschiedenen Arten der Ionenaustauschchromatographie, werden die zu trennenden Ionen auf den zu einer Säule geschichteten Ionenaustauscher (meist ein Kunstharz) gegeben und am oberen Ende der Säule gegen das Gegenion seiner Ankergruppe ausgetauscht. Nachgewaschen wird mit einem Elutionsmittel, das das ursprüngliche Gegenion der Ankergruppe in höherer oder ansteigender Konzentration enthält. Obwohl die zu trennenden Ionen eine höhere Affinität zur Ankergruppe aufweisen als das Gegenion des Elutionsmittels, tritt im Verlauf der Elution doch wieder ein Ablösen der zu trennenden Ionen ein, deren Plätze an der Ankergruppe des Harzes durch

das Gegenion des Elutionsmittels - und damit das Gegenion des ursprünglichen Beladungszustandes des Austauschers - wieder eingenommen werden. Grund für die Reversibilität der Bindungen an den Ankergruppen ist das jeweilige Vorliegen von Gleichgewichtsreaktionen (gebunden nicht gebunden). Wie stark eine Substanz vom Austauscher festgehalten wird, hängt von ihrem Ionisationszustand ab, d.h. von der Dissoziationskonstanten K ihrer einzelnen Gruppen und vom pH des Elutionsmittels.

Im Fall der Auftrennung von Aminosäuren nach diesem Prinzip wird das Aminosäurekation H_3N^+-CHR-COOH an der Ankergruppe des in der Na^+-Form vorliegenden Austauschers zunächst gegen Na^+ ersetzt. Es wird aber wieder abgegeben, gegen Na^+ des Puffers ausgetauscht und geht in das Zwitterion H_3N^+-CHR-COO^- über. Dieser Prozeß wiederholt sich von Schicht zu Schicht und führt unter Ausnutzung der geringen Unterschiede der Dissoziationskonstanten der Aminogruppen verschiedener Aminosäuren zu deren Trennung voneinander (KARLSON).

STRUKTUR UND CHEMIE VON GLASKÖRPER UND KAMMERWASSER

Der Glaskörper nimmt den Raum zwischen Retina, Ciliarkörper und der Linse mit ihrem Aufhängeapparat ein. Hier dient er zunächst als Füllmaterial. Jedoch machen ihn erst besondere Eigenschaften für diese Aufgabe geeignet, und zwar seine Transparenz und zum anderen sein "viscoelastisches" (BALAZS) Verhalten, das ihm eine wichtige Stoßdämpferfunktion für Retina und Linse mit Aufhängeapparat zuweist. Diese beiden wichtigen Eigenschaften ergeben sich jedoch erst aus Besonderheiten seiner Struktur.

Sein mechanisches schwingungsdämpfendes Verhalten folgt vor allem aus seinem Aufbau, der durch ein elektronenmikroskopisch nachgewiesenes Netzwerk von Fibrillen und hochpolymeren Hyaluronsäuremolekülen charakterisiert ist. Die von SCHWARZ entdeckten "Gelkörperfibrillen" haben einen Durchmesser von 100 - 200 Å. Sie sind unverzweigt, ohne Quervernetzung, besitzen eine Periodik von 120 Å und bilden ein zufällig angeordnetes polygonales Netzwerk, in welches hochpolymere Hyaluronsäuremoleküle locker eingelagert sind. BALAZS ordnet die Glaskörperfibrillen als zur Gruppe der Kollagene gehöriges Protein ein. Im Bereich der Glaskörperperipherie verdichten sich diese Strukturen zur "Glaskörperrinde". Diese Verdichtungszone läßt sich an allen Begrenzungsflächen des Glaskörpers nachweisen. Die Fibrillen scheinen dann alle in die "membrana hyaloidea" ("vitreo-retinale Grenzschicht" = "Basallamelle" = "membrana limitans interna") hineinzulaufen, die man heute als eigentliche äußere Begrenzung des GK auffaßt. Sie läßt sich von protoplasmatischen Fußpunkten der Müller'schen Radialfaserglia abgrenzen

und besitzt die Struktur einer Basalmembran von 1000-2000 Å Dicke (Gärtner). In sie laufen die Glaskörperfibrillen schichtenweise hinein, so daß eine lamelläre Struktur entsteht. Dieser Membran scheint eine ganz wesentliche Funktion bei der Aufrechterhaltung der Transparenz des Glaskörpers zuzukommen, in dem sie die Rolle eines Siebes übernimmt, das Moleküle einer Größe von mehr als 100-150 Å Durchmesser aus dem Glaskörper fernhält. Die Transparenz des Glaskörpers ist aus zwei Gründen sehr hoch: die Konzentration löslicher Stoffe, die Licht im sichtbaren Spektrum absorbieren, ist sehr gering, und die meisten Partikel, die Licht zerstreuen könnten, sind kleiner als die Wellenlänge des sichtbaren Lichtes. In gleichem Sinne wirkt hier ebenfalls die bereits erwähnte Glaskörperrinde mit ihrem Fibrillennetzwerk und vor allem den darin eingelagerten Hyaluronsäurepolyanionen, die mit ihren negativ geladenen Carboxylgruppen ein extrem hohes elektrostatisches Potential aufbauen. Positiv geladene Partikel können so in den Hyaluronsäureketten festgehalten werden. Ebenso sind die Hyaluronsäuremoleküle stark wasserbindend wirksam und rufen damit die gelartige Beschaffenheit des Glaskörpers hervor. Wichtig erscheint, daß die mombrana hyaloidea als wichtigste Schranke zwischen Blutstrom und Glaskörper im Bereich der pars plana des Ciliarkörpers und der Papille Lücken aufweist, außerdem fehlt sie an der gesamten Rückfläche der Linse und deren Aufhängeapparat.

Die einzigen im Glaskörper nachweisbaren Zellen sind Fibrozyten vor der Papille sowie Hyalozyten, die sich in der Glaskörperrinde vor der Retina befinden. Die letzteren sind nach BALAZS zur Hyalurosäureproduktion befähigt, außerdem kämen ihnen phagozytäre Eigenschaften zu. Damit könnten sie auch eine wichtige Funktion

bei der Konsistenz- und Transparenzerhaltung des Glaskörpers übernehmen.

Der für uns interessante Proteingehalt des Glaskörpers liegt beim Eulenaffen, dem Versuchstier von BALAZS, durchschnittlich bei 80 /ug/ml. Außerdem besteht ein Konzentrationsgefälle vom hinteren über den vorderen zum zentralen Glaskörper. Bei Untersuchungen am Rind fanden sich Werte um 800 /ug/ml, außerdem ließ sich hier ein leichter Abfall der Konzentration vom jungen zum erwachsenen Tier nachweisen. Die meisten Proteine des Glaskörpers stammen nach Ansicht von BALAZS aus dem Serum. Auch konnten Albumine, - und -, sowie Immunglobuline, wenn auch in sehr geringer Konzentration, nachgewiesen werden. Ob einige Glykoproteine, die nach immunochemischen Untersuchungen nicht aus dem Serum stammen können, in Zellen des Glaskörpers gebildet werden, ist noch nicht sicher. Der Raum zwischen Vorderfläche der Linse und Zonulafasern sowie der Cornea ist im Gegensatz zu dem Raum hinter der Linse lediglich flüssigkeitsgefüllt.

Eine Trennung in hintere und vordere Augenkammer erfolgt durch die Iris. Gebildet wird das Kammerwasser von den Ciliarkörperfortsätzen. Es fließt dann durch die Pupille in die vordere Augenkammer und über ein Trabekelwerk in den Schlemm'schen Kanal. Von dort aus gewinnt es über sogen. "Wasservenen" Anschluß an das venöse System.

Lange Zeit war die Natur der Kammerwasserproduktion umstritten. Zur Filtrationstheorie kamen die der Sekretion, Dialysation (Diffusion) und Ultrafiltration.

BÁRÁNY machte das Vorliegen von Sekretionsprozessen wahrscheinlich, indem er zeigen konnte, daß auf dem Wege über eine Senkung des Filtrationsdruckes durch einseitige Drosselung der A. carotis keine Senkung der Natriumkonzentration möglich ist. Auch die Tatsache, daß das Kammerwasser gegenüber Plasma hyperton ist,

weist auf einen Sekretionsprozess hin, ebenso die Möglichkeit, den intraocularen Druck durch Hemmstoffe für die Zellatmung herabzusetzen.

Der Einstrom von Nichtelektrolyten würde demgegenüber passiv dem osmotischen Druckgradienten folgen (DAVSON). Die Kammerwasserbildung ist also als vornehmlich kombinierter Sekretions-Diffusionsvorgang und für jede Substanz gesondert zu betrachten (DUKE-ELDER).

Als Schranke zwischen Gefäßsystem und Kammerwasser sind für die Sekretionsvorgänge wahrscheinlich die zwei Epithelschichten und für die Diffusion die Basalmembranen anzusehen (ROHEN). Wichtig erscheint, daß nach Vorderkammerpunktionen, aber auch anderen Traumen, Schwellungen der Ciliarfortsätze mit interstitiellem Ödem und Hyperämie auftraten. Es wurden hierbei Zellabhebungen, Diapedesen und Eiweißaustritt beobachtet (ROHEN). Diese Veränderungen betrafen jedoch nur die vorderen Anteile der Ciliarfortsätze.

REDDY, ROSENBERG und KINSEY untersuchten 1961 die Verteilung freier Aminosäuren in Plasma, Kammerwasser und Glaskörper des Kaninchens mit Hilfe der Ionenaustausch-Chromatographie. Als wichtig erwies sich nach Vorversuchen, die Tiere vor der Probeentnahme einer 24-stündigen Nahrungskarenz zu unterwerfen, da sonst starke Schwankungen der Aminosäurekonzentrationen auftraten.

Es zeigte sich, daß die Konzentration von Arginin, Asparaginsäure, Glutaminsäure und Tyrosin im Kammerwasser etwa doppelt so hoch wie im Plasma war. Alanin, Histidin, Lysin, Methionin, Phenylalanin und Serin fanden sich um das 1 - 1,5 fache des Plasmawertes erhöht. Die Konzentrationen von Isoleucin, Leucin und Valin waren im Kammerwasser und Plasma etwa gleich hoch, und lediglich Glycin, Prolin, Hydroxyprolin und Threonin hatten ihre höhere Konzentration im Plasma.

(Faktor für Prolin, Hydroxyprolin und Threonin 1 - 1,5, für Glycin jedoch 4 !)

Interessant erschien ihnen die Beobachtung, daß die Konzentration aller Aminosäuren im Glaskörper etwa einem Fünftel derjenigen im Kammerwasser entsprach.

Sie leiteten aus ihren Ergebnissen die Vermutung ab, daß für die Aminosäuren, die im Kammerwasser höher konzentriert als im Plasma vorliegen, ein Sekretionsmechanismus anzunehmen sei. Die niedrigeren Werte freier Aminosäuren im Glaskörper seien auch durch einen entsprechenden Verbrauch in diesem intraocularen Gewebe zu erklären. BITO beschäftigte sich mit den gleichen Problemen beim Hund und kam zu dem Ergebnis, daß im Kammerwasser Alanin, Leucin, Phenylalanin und Tyrosin zwar höher konzentriert als im Plasma seien. Die Unterschiede seien aber nicht so hoch, daß sie die Annahme eines aktiven Transportes ins Kammerwasser rechtfertigen würden. Er bestätigte die niedrige Konzentration freier Aminosäuren im Glaskörper und fand durch gesonderte Aufarbeitung des vorderen und hinteren Glaskörpermaterials, daß hier ein Konzentrationsgefälle von vorn nach hinten vorliege. Auch er hielt einen Verbrauch durch die Retina oder Zellen der Glaskörperrinde für möglich.

Von WELGE-LÜSSEN wurden mit einer elutionschromatographischen Mikromethode Untersuchungen freier und gebundener Aminosäuren im Kammerwasser und Glaskörper des Kaninchens durchgeführt. Erstmals reichte hier das Substrat von Glaskörper bzw. Kammerwasser eines Auges für eine Gesamtanalyse aus. Es konnten 21 Aminosäuren identifiziert werden. Hierbei zeigte sich, daß die freien Aminosäuren Asp, Glu, Meth, Illeu, Orn 4-5fach, Leu, Tyr, Phe, Lys, His, Arg, Val 7fach, Gly und Ala 10fach niedriger im Glaskörper als im Kammerwasser konzentriert sind.

REDDY und KINSEY fanden für Glutaminsäure im Glaskörper 2fach niedrigere Konzentrationen.

Bei allen anderen untersuchten Aminosäuren waren die Ergebnisse - verglichen mit den Daten von REDDY und KINSEY - weitgehend kongruent. Bei den gesamten Aminosäuren (freie und durch Hydrolyse zusätzlich freigesetzte AS) wurde ein hochsignifikantes Konzentrationsdefizit des Glaskörpergewebes gegenüber dem Kammerwasser gefunden.

Mit OPPERMANN wurde dann die Veränderung des gefundenen Aminosäuremusters nach intravitrealer Implantation eines Kupfersplitters bei einer Verweildauer von 4 und 28 Tagen untersucht. Dabei ließ sich ein deutlicher Anstieg der freien und gesamten Aminosäuren im Glaskörper feststellen. Konzentrationserhöhungen von mehr als 200 % fanden sich allgemein, außer bei Taur, Asp, Glu und Met. Bei anderen Aminosäuren wurden Steigerungen um das 4-8fache registriert. Die Konzentrationszunahmen im Kammerwasser waren deutlich niedriger, da die Konzentrationen nur bis auf das 2fache anstiegen.

Eine Versuchsserie gleichen Musters mit MÖSSINGER, bei der Schwarzeisensplitter Verwendung fanden, zeigte ebenso recht deutliche Konzentrationsanstiege im Glaskörper, die jedoch etwa um 100 % niedriger lagen als bei den Kupferversuchen. Im Kammerwasser ließen sich Erhöhungen nur für Asp und His statistisch sichern.

Als Deutung der Ergebnisse wurde eine Gewebsproteolyse unter dem Einfluß von Kupfer- bzw. Eisenionen diskutiert. Ebenso wurde an eine Störung der Blut-Glaskörperschranke mit vermehrtem passivem Übertritt von Aminosäuren gedacht.

EINFLUSS INTRAOCULARER FREMDKÖRPER

AUF VERSCHIEDENE AUGENGEWEBE

Die Behandlung intraocularer Fremdkörper (FK) ist in der Ophthalmologie schon immer von großer Wichtigkeit gewesen. So beträgt ihr Anteil an den Augenverletzungen in industrialisierten Ländern übereinstimmend 35 - 40 %, während der Anteil von Augenverletzungen an allen Arbeitsunfällen mit 10 - 20 % relativ hoch liegt (NEUBAUER)! Die Bedeutung der Diagnostizierung eines intraocularen FK ergibt sich aus der damit verbundenen hochgradigen Gefährdung der Sehfähigkeit des entsprechenden Auges. So wird auch heute noch jedes dritte Auge mit magnetischem FK unbrauchbar, während die entsprechende Zahl für amagnetische FK noch ungünstiger liegen dürfte. Diese Unterteilung: magnetisch - amagnetisch ist vor allem für die Art des operativen Vorgehens von Bedeutung.

Neben der traumatischen Wirkung von FK spielte vor Einsetzen der antibiotischen Therapie vor allem das Auftreten von Infektionen eine große Rolle, da das Glaskörper-Gewebe in dieser Hinsicht besonders anfällig ist. Schon früh erkannte man aber die unterschiedliche Reaktion von Geweben des Auges auf verschiedene FK-Materialien.

So fand LEBER 1884, daß intraoculare Fremdkörper aus oxydablen Metallen für sich allein entzündungserregend wirken können. Es gebe aber auch chemisch indifferente Materialien, deren bloße Anwesenheit im Auge keine Entzündung hervorrufe.

In Tierversuchen zeigte sich nach Einbringung von Kupfer in die Vorderkammer (VK) eine starke entzündungsähnliche Reaktion mit eitriger Umhüllung des FK. Es folgte jedoch keine generalisierte Ausbreitung der Reaktion wie bei Infektionen.

Eisen zeigte eine geringere entzündungserregende Wirkung, und die fibrinäre Umhüllung der Splitterteile verschwand nach einigen Wochen. Daß aber auch die Lage des FK für die Stärke der Reaktion bedeutend war, zeigte sich mit dem Ausbleiben jeglicher Reaktion auf das Einspießen eines Kupferdrahtes in die Linse. Dieser ragte in die VK hinein, ohne Kontakt mit Cornea oder Iris zu haben. Als Ursache dieser Reaktion nahm LEBER das Auftreten einer Bindung gelöster Cu-Teilchen mit Eiweiß an, bevor diese mit gefäßhaltigen Teilen der Iris in Kontakt treten konnten.

FRANKE 1884 und v. HIPPEL 1893 kamen zu ähnlichen Ergebnissen.

In einer Arbeit über FK-Verletzungen im Kriege sah WEIGELIN die Akzente etwas anders. Das Primärtrauma war meist größer, die Splitterform unregelmäßiger. Doch schon damals zeichnete sich mit dem vermehrten Auftreten von Legierungen als FK-Material eine Entwicklung ab, die mit ihren Konsequenzen für Operabilität und bezüglich chemischer FK-Wirkungen Beachtung fand. Spezifisch chemische Wirkungen von Eisensplittern fand WEIGELIN nur in wenigen Fällen. Er bestätigte jedoch die hohe entzündungserregende Wirkung von Cu-Splittern, die zu Glaskörpertrübung und Ablatio retinae führten. Die chemische Wirkung von Blei, das meist (wegen des niedrigen Schmelzpunktes) in Spritzerform auftrat, wurde als relativ indifferent gefunden. Die Reaktion des Auges auf Stein, Pulver und Holz wurde vor allem damit in Zusammenhang gebracht, ob diese aseptisch eingedrungen waren oder nicht. Das Verhalten verschiedener Legierungen des Aluminiums im Auge untersuchte 1940 MIELKE. Er verwendete Reinaluminium, Leichtlegierungen (spez. Gew. 3.8 - unter Zugabe von Silicium, Magnesium, Mangan, Kupfer, Eisen, Nickel, Titan) und

thermisch vergütetes Material. Am beständigsten erwiesen sich Reinaluminium, thermisch vorbehandelte- und Magnesiumlegierungen, während alle Cu-haltigen zerfielen. Wirkungen von Zerfallsprodukten auf Augengewebe wurden jedoch nicht beobachtet.

ROPER-HALL nimmt folgende Einteilung nach FK-Material vor:

1. Gruppe: keine Reaktion bei Verbleib im Auge durch Gold, Silber, Platin, Plastik,

2. Gruppe: weniger gut toleriert, aber häufig überzogen mit einem inerten Salz und später fest eingekapselt: Blei, Zink, Nickel, Aluminium

Gruppe 1 und 2 kann nach NEUBAUER meist belassen werden, wenn der Splitter nicht in seiner Endlage beweglich bleibt (z.B. Glassplitter am Boden des Kammer-Winkels)

3. Gruppe: organisches Material (z.B. Zilien) wird häufig gut ertragen, wenn es nicht durch Wanderung Irritation hervorruft. Pflanzliches Material wird besser geduldet, wenn es völlig trocken ist. So wirken safthaltige Holzsplitter stark reizend. Insgesamt hält NEUBAUER diese Gruppe jedoch für stark irritativ und beläßt sie nicht im Auge.

Wegen des großen Anteils an den FK-Verletzungen und wegen ihrer als besonderes Krankheitsbild respektierten chemischen Wirkung, werden auch von ihm Cu- und Fe-Splitter hervorgehoben. Die Reaktion der Augengewebe ist hierbei in der Linse am geringsten. Im Glaskörper (GK) ist sie im hinteren Segment gewöhnlich stärker als im vorderen.

4. Gruppe: Kupfer (Chalcosis)
Die chemische Wirkung von Kupfer manifestiert sich am sichtbarsten in Form einer charakteristischen sonnenblu-

menartigen Katarakt, die durch Cu-Einlagerungen unter der Linsenvorderkapsel hervorgerufen wird.

Auch die Ablagerungen des Metalls in der Descemet'schen Membran in Form eines Kayser-Fleischer-Ringes sind sehr auffallend. Kommt es auf der Retina zu Niederschlägen, so ordnen sie sich an wie kleine, glänzende Goldblätter entlang den Hauptstämmen der Arterien und Venen. Ebenso kommt es zu Ablagerungen auf der Iris. Im Glaskörper treten kulissenartige Trübungsschleier und spinnwebartige goldflitterbesetzte Strukturen um den FK herum auf. Doch all dies sind mehr subakute bis chronische Verlaufsformen, deren Ausgang trotzdem nicht zuletzt wegen einer zunehmenden Schädigung der Netzhautfunktion dubios ist. Durch ein größeres Primärtrauma, limbusnahe Perforation, größere Oxydationsfläche oder gefäßnahe Lage des Splitters ist die Reaktion jedoch meist wesentlich bedrohlicher. Es kommt hier zu Panophthalmie und rapider Zerstörung des Auges.

Bei intravitrealer Lage besteht der Ausgang im Tierexperiment meist im Auftreten eines GK-Abszesses. So fand NEUBAUER ab 3. - 4. Tag eine wäßrige GK-Verflüssigung, die nach Entleerung nur ein feines spinnwebartiges Netzwerk hinterließ.

Ab 5. Tag trat leukozytäre Infiltration und zunehmende fibröse Proliferation auf, ab 15. Tag zunehmende zystische Degeneration der benachbarten Netzhautareale. Gleichzeitig durchgeführte Bestimmungen des Cu-Gehaltes des GK-Gewebes zeigten Erhöhungen auf das Vierfache der Norm innerhalb von 30 Tagen.

In Anlehnung an PIRIE und v. HEYNINGEN, die eine katalytische Wirkung von Kupfer bei der oxydativen Depolymerisation der Hyaluronsäure durch Ascorbinsäure postulieren, wurde das Auftreten der GK-Verflüssigung der

festgestellten Cu-Ionen-Konzentrationserhöhung zugeschrieben.

5. Gruppe: Eisen (Siderosis)

Demgegenüber ist die Reaktion verschiedener Augengewebe auf Eisen mehr schleichend. Histologisch sind erste Veränderungen in Form von Ablagerungen, die sich auf die Umgebung des FK konzentrieren, unter Bevorzugung epithelialer Strukturen erkennbar. Sie sind am dichtesten im Trabekelwerk des VK-Winkels, auf der Vorderfläche und in der Muskulatur der Iris, im Linsenepithel, dem Epithel des Ciliarkörpers und auf der ganzen Retina (am fortgeschrittensten meist Retina und Linse). Die Cornea zeigt bei den Spaltlampenuntersuchungen eine rostige Verfärbung, mehr in der Peripherie als im Zentrum. Auch die Iris sticht mit ihrer gleichartigen Verfärbung hervor. Es besteht meist eine Iritis. Die Pupille ist halb dilatiert, ihre Reaktionen auf Licht, Konvergenz und Medikamente sind träge. In der Linse tauchen zunächst unzählige braune Punkte im Subcapsularbereich auf, die die ganze Vorderfläche einnehmen. Diese treten später zu rostigen Flecken zusammen, die sich der Pupille benachbart gesetzmäßig anordnen. Der Rest der Linse nimmt nach und nach eine gelbe Farbe an. So kommt es schließlich zu vollkommener Linsentrübung. Veränderungen an der Retina sind sehr stark, und da sie irreversibel sind, stellen sie die ernsteste Konsequenz eines verbliebenen Eisen-FK dar. Die Ablagerungen sammeln sich zunächst auf der inneren und äußeren Grenzmembran, in den inneren Schichten der Retina und in der Pigmentschicht. Zäpfchen und Stäbchen bleiben zunächst frei, während die Ganglienzellen und das Pigmentepithel alteriert werden. Später degeneriert die ganze Netzhaut, und es kommt zur Gliaproliferation, auch eine Netzhautablösung ist möglich.

Klinisch äußert sich die Entwicklung in einer Sehverschlechterung, zunächst in Form von Nachtblindheit. Danach kommt es unter Verkleinerung des Gesichtsfeldes zu zunehmender Visusabnahme. Häufig tritt ein Sekundärglaukom auf, oft ist das Auge aber vorher schon erblindet.

Auch wenn der FK am Beginn solcher Entwicklungen entfernt wird, bleibt die Prognose zweifelhaft. Selbst wenn die Pigmentierungen zurückgehen, ist der Retinaschaden gewöhnlich unaufhaltsam progressiv. CIBIS nimmt zwei Mechanismen an, die Effekte an intraocularen Strukturen bewirken:

1. die irreversible Bindung von Fe an siderophile Substanzen - besonders Mucopolysaccharide des Glaskörpers, perivasculäres Gewebe der Retina und des N. opticus, des Trabekelwerkes und des Schlemm'schen Kanals.

2. Zellveränderungen, die durch Eisenaufnahme in das Zytoplasma von Endothel- und Epithelzellen (als Siderin und Haemosiderin) hervorgerufen werden.

M E T H O D I K

Die Versuche wurden an erwachsenen Kaninchen mit einem Gewicht zwischen 3.100 und 4.800 g durchgeführt. Sie wurden mit Ovator-Solikanin-Futter gefüttert. Vor Tötung, die durch einen Nackenschlag erfolgte, setzten wir sie einer 24-stündigen Nahrungskarenz aus, um nach dem Vorschlag von REDDY, ROSENBERG und KINSEY gleichmäßige Aminosäureblutspiegel zum Zeitpunkt der Probeentnahme zu erhalten.

Zur Operation: Oberflächenanästhesie des vorderen Bulbusabschnittes mit 2 %igem Novesin. Luxation des Bulbus und subconjunctivale Injektion von 0,5 ml Scandicain. Dann Eröffnung der Bindehaut 3 - 4 mm vom Limbus entfernt und Anlegen eines etwa 4 mm langen radiären Skleralschnittes.

Nach sorgfältiger Blutstillung durch Tupfer wurde ein steriler, abgeschliffener Platinsplitter (ca. 1,5 x 2,3 x 0,5 mm; 35 $\pm$ 1 mg) in den Glaskörper eingeführt. Nur gelegentlich ging Glaskörperinhalt bis höchstens Reiskorngröße verloren. Dann Naht der Sklera mit Supramidseidenfäden und fortlaufende Bindehautnaht.

Dauer der Operation: 15 - 20 Minuten. Anschließend wurde die Splitterlage mit dem Augenspiegel kontrolliert und das Auftreten einer Glaskörperblutung ausgeschlossen. Dann Gabe von Leukomycin- und Atropinaugensalbe. Weiterhin regelmäßige Kontrolle der Splitterlage, ebenso des übrigen Glaskörperbefundes.

Materialgewinnung: Tötung des Versuchstieres durch Nackenschlag, dann innerhalb von 10 - 15 Minuten Enucleation beider Augen. Nach Vorderkammerpunktion wurden ca. 0,3 ml Kammerwasser gewonnen und nach Eröff-

nung der Sklera 0,9 - 1,1 ml Glaskörper aspiriert.

Materialaufbereitung: Enteiweißung von Kammerwasser- und Glaskörpermaterial mit jeweils der doppelten Menge 0,5n-Perchlorsäure. Anschließend wird bei + 4°C und 2500 g (9,81 m/sec^2) zentrifugiert. Nachextraktion des Rückstandes mit 1 ml 0,5n-Perchlorsäure und Zentrifugieren unter gleichen Bedingungen. Der Überstand beider Zentrifugate wird zusammengegeben und mit 10n KOH nach der Tüpfelmethode auf ein pH von 6 - 7 gebracht. Erneutes Zentrifugieren führt zum Abtrennen des ausgefällten Perchlorates. Dann wird der Extrakt im Rotationsverdampfer (Fa. Büchi) zur Trockene eingeengt und anschließend in 2 ml 0,1n HCl gelöst. Die Hälfte der gelösten Trockensubstanz wird mit 15 ml 6n HCl am Rückflußkühler bei + 110°C sechs Stunden lang hydrolysiert, danach ebenfalls eingeengt und in 1 ml 0,1n HCl gelöst. Aufbewahrung aller Extrakte bis zur Analyse bei - 18°C.

Die Analysen wurden an einer 1967 von WELGE-LÜSSEN in Zusammenarbeit mit GERCK aufgebauten Apparatur durchgeführt, die nach dem Prinzip der Ionenaustauschchromatographie arbeitet. Sie stellt im Prinzip eine maßstabgerechte Verkleinerung des 1958 von SPACKMANN, STEIN und MOORE beschriebenen Verfahrens dar und ermöglichte erstmals vollständige Analysen an Einzelaugen.

Nach dem gleichen Vorbild stellten auch HANNIG (1959), DARDENNE u. KIRSTEN (1962), KIRSTEN u. KIRSTEN (1964) ähnlich arbeitende Anlagen vor.

Aufbau des Registrierverfahrens: Füllung von Teflonsäulen (Innendurchmesser 2 mm, Außendurchmesser 4 mm) mit dem sauren Kunstharzkationenaustauscher Amberlite CG 120, Korngröße 35 - 45 µ.

Säulenlänge zur Trennung saurer und neutraler AS 160 cm

(Säule I), zur Trennung basischer AS 60 cm (Säule II). Regenerierung der Säulen mit 0,2n NaOH.

Zum Betrieb der Säule I wurden Citratpuffer einer Na-Konzentration von 0,2n von pH 3,25 und 4,25 benutzt, an der Säule II Citratpuffer von pH 4,20 und 5,28 einer Na-Konzentration von 0,35n. Zur Farbentwicklung fand Ninhydrin Verwendung. Der Vorschub der Flüssigkeiten erfolgte mit einer Geschwindigkeit von 3 ml/h (bzw. 1,5 ml/h für Ninhydrin) durch Kolbenpumpen der Fa. Labotron (Gelting) über ein Teflonschlauchsystem von 0,5 bis 0,7 mm lichter Weite.

Analysengang:

Trennung saurer und neutraler AS:

Aufgeben einer Probemenge von 0,2 ml auf Säule I. Durch Thermostaten im Wassermantel um die Säule konstant 50°C. Fünf Stunden lang Nachpressen des Puffers-pH 3,25 (5 atü im System), weitere fünf Stunden mit Puffer-pH 4,25. Nach Austreten des Eluates aus der Säule Zuführen von Ninhydrin mit einer Fördermenge von 1,5 ml/h. Dann Farbentwicklung im siedenden Wasserbad während 20 Minuten. Anschließend Durchlaufen einer Durchflußküvette im Photometer Beckmann DB und kontinuierliche Extinktionsmessung bei 578 m/u und Aufzeichnung über angeschlossenen Schreiber mit konstantem Papiervorschub. (Keine Simultanmessung bei 436 m/u aus äußeren Gründen, so daß Prolin nicht berücksichtigt wurde.) Registrierungsende nach 10 Stunden, dann Regenerieren der Säule mit 0,2n NaOH (3 Std. 30') und Neutralisieren mit Puffer pH 3,25 (1 Std. 45').

Trennung basischer AS:

Aufgeben einer Probemenge 0,2 ml (bzw. 0,3 ml bei Glaskörperbestimmung) auf Säule II. Anfangstemperatur der Säule 25°C. 8 1/2 Stunden lang Elution mit Puffer pH 4,20, dann Wechsel auf pH 5,28 und Erhöhung der Säulentemperatur auf 50°C 6 1/2 Stunden lang.

Nach Abschluß dieses Analysenteils Regenerierung der Säule II mit 0,2n NaOH (2 Std. 30') und Neutralisieren mit Puffer pH 4,20 (1 Std. 15').

Beide Analysenteile (Säule I und Säule II) konnten innerhalb 24 Stunden durchgeführt werden, da die Registrierung des Eluats der Säule II erst 4 Std. 30' nach ihrem Betriebsbeginn nötig war. Praktisch sah das so aus, daß das Auftragen der Substanz auf Säule II und deren Betriebsbeginn 3 Stunden vor Ende der Säule I erfolgte. Die Zuleitung von Ninhydrin zum Eluat der Säule II begann dann nach Abschluß der Registrierung von Säule I. Auf diese Weise kamen wir auf eine Dauer des "kombinierten Programms" (Säule I und Säule II) von 10 + (15-3) = 22 Stunden.

Die Regenerierung und Neutralisierung ist hierbei nicht zu berücksichtigen, da sie für die Säule II in den ersten 7 Stunden des Betriebs der Säule I und für die Säule I in den verbleibenden 12 Stunden des Betriebs der Säule II erfolgen konnte.

Dieser Betriebsablauf erforderte jedoch einen erheblichen Bedienungsaufwand, da Schraubenanschlüsse gelöst werden mußten und vor allem die Pufferwechsel ein Eingreifen zur Bedienung notwendig machten, - im Fall Säule II (pH 4,20 - pH 5,28) zum sehr ungünstigen Zeitpunkt 15 h 30' nach Beginn des kombinierten Programms (meist 24 Uhr).

Diese Nachteile konnten nun durch Umbau der Anlage unter Verwendung folgender Geräte ausgeschaltet werden:

- Vier Chromatographiepumpen mit parallel angetriebenen Zylindern, Fördermenge 3 ml/Std.
  Modell LDP 11A (in Abb. 1: P1, P2, P3, P4)
- eine entsprechende Pumpe mit der Fördermenge 1,5 ml/Std. (P5),
- ein Umschaltventil für Handbetätigung mit 4 Anschlüssen (V3),
- ein Umschaltventil mit 4 Anschlüssen motorbetrieben (V2 mot.)
- ein Umschaltventil für Handbetätigung mit 6 Anschlüssen (V1),
- ein Zeitgeber zum automatischen Umschalten von einer Pumpe auf eine zweite; Einstellbereich 1 - 12 Std.,
  (alle genannten Geräte Fa. Labotron-Messtechnik Gelting/ München)
- eine einfache Zeitschaltuhr, für 24 Stunden, auf Ein-Aus einstellbar.

Erläuterung des Flußschemas:

Die Verteilung der Reagentien auf die Pumpenzylinder erfolgt nach dem aus Abb. 1 ersichtlichen Muster.

Ablauf des Programms:

Zeitpunkt 0 h 00' (Abb. 1 a)

- Anschluß von P2, P1, P4, V2 (mot) an den Zeitgeber, der auf 5 Stunden (Pufferwechsel S I) eingestellt wird.
- Der Pumpe P4 wird zusätzlich die einfache Schaltuhr, die auf 6 Std. 15' eingestellt ist (Beendigung der Neutralisierung von S II) direkt vorgeschaltet.

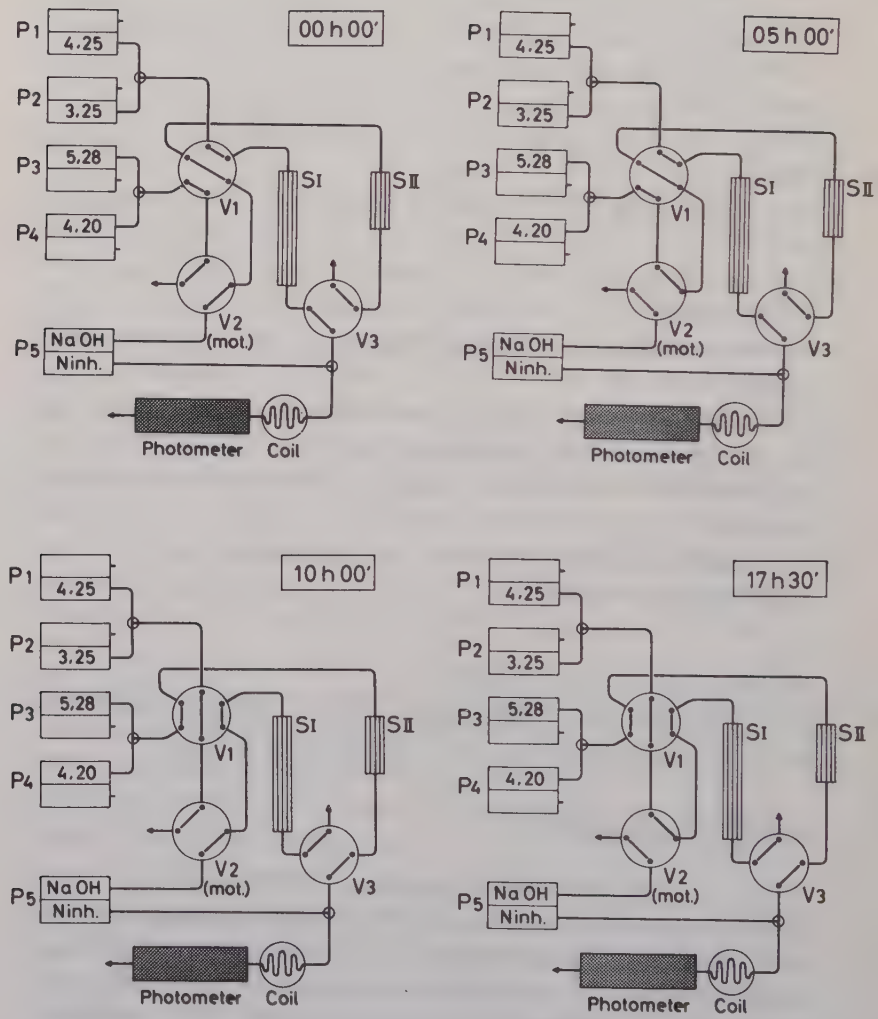


Abbildung 1 a - d: Schaltschema der teilautomatisierten Chromatographieeinheit während des Programmablaufs.
P1 - P5 Kolbenpumpen, V1 - V3 Schaltventile
SI und SII Ionenaustauschersäulen.

- Thermostat (50°C) an Säule I anschließen,
- in Ventil V1, V2 und V3 folgt der Flüssigkeitsstrom den ausgezogenen Linien.

P2 fördert nun den Puffer pH 3.25, der über ein T-Stück zu V1 und von dort durch S I über V3 in Richtung Wasserbad (Coil) und Photometer bewegt wird. Vor dem Wasserbad fließt über ein T-Stück das von P5 von Beginn an geförderte Ninhydrin zu. Gleichzeitig liefert P5 NaOH, welches durch V2 und V1 die Säule II regeneriert und über V3 abläuft.

Zum Zeitpunkt 05 h 00' (Abb. 1 b)

erfolgen alle Steuerungsvorgänge durch den Zeitgeber:

P2 wird gestoppt, P1 und P4 laufen an, V2 wird motorgetrieben umgelegt.

Es gilt nun Flußschema 05 h 00'.

Der Pufferstrom pH 4.25 folgt ohne Änderung von Ventilstellungen dem von pH 3.25. Der Puffer pH 4.20 erreicht die Säule II auf dem erkennbaren Wege und neutralisiert sie. Der Vorgang wird nach 1 Std. 15' durch die einfache Schaltuhr beendet. P5 läuft unverändert weiter; NaOH wird in V2 jedoch abgeleitet.

Auftragen der Probe auf die neutralisierte Säule II zum Zeitpunkt 09 h 00' (unverändertes Flußschema),

- zum Ausgleich von Zeitverschiebungen bis auf 07 h 00' vorverlegbar.

P4 wird wieder in Gang gesetzt. Temperatur von Säule II zunächst entsprechend der konstant auf 25°C befindlichen Raumtemperatur.
Bis 10 h 00' läuft die Säule II ohne Anschluß an die Registrierung.

Zum Zeitpunkt 10 h 00' (Abb. 1 c)

ist die Registrierung der Säule I abgeschlossen.

- Die Ventile V1, V2 und V3 werden umgelegt,
- nunmehr gilt Flußschema 10 h 00', damit ist S II an die Registrierung angeschlossen.
- Der Zeitgeber wird auf 7 Std. 30' eingestellt (Pufferwechsel S II)
  Mit ihm verbunden werden P4, P3, P2, V2 (mot) und der auf 50°C eingestellte Thermostat.
  Der Pumpe P2 wird zusätzlich die einfache Schaltuhr, auf 9 Std. 15' eingestellt (Beendigung des Neutralisierens von S I), direkt vorgeschaltet.
  Nunmehr läuft der Pufferstrom pH 4,20 direkt von V1 zu S II und über V3 weiter zum Registriergerät. Ninhydrin läuft dem nun von S II kommenden Eluat zu. Die von P5 ständig geförderte Natronlauge erreicht entsprechend dem Flußschema S I und regeneriert sie.

Alle Steuervorgänge zum Zeitpunkt 17 h 30' (Abb. 1 d) werden vom Zeitgeber automatisch ausgelöst:

- Pufferwechsel von S II: P4 wird gestoppt und P3 in Gang gesetzt.
- Die Säulentemperatur S II wird jetzt vom Thermostat auf 50°C aufgeheizt.
- P2 läuft an, und V2 (mot) wird umgelegt.
  Dadurch erfolgt nun die Neutralisierung von S I in den folgenden 1 Std. 15'. Zu diesem Zeitpunkt legt die Schaltuhr P2 wieder still.
  Die Gesamtanalyse ist dann zum Zeitpunkt 24 h 00' nach Ende der Registrierung von S II beendet.
  Eine neue Analyse kann unmittelbar folgen, da S I schon im neutralisierten Zustand ist.
  Die Anlage muß damit nur noch zu 3 Zeitpunkten bedient werden:

1.) zum Zeitpunkt 0 h 00'
    Auftragen und Beginn von Säule I,

2.) zum Zeitpunkt 09 h 00'
Auftragen und Beginn von Säule II

3.) zum Zeitpunkt 10 h 00'
Ende von Säule I und Anschluß von Säule II an die Registrierung.

Unser Versuchsaufbau ist damit in seiner Leistungsfähigkeit durchaus mit wesentlich teureren und aufwendigeren Apparaturen von Herstellern analytischer Meßgeräte vergleichbar.

Der Vorteil der erfolgten Automatisierung besteht einmal in einer erheblichen Verringerung des Bedienungsaufwandes. Auf der anderen Seite kann aber durch die große Präzision der Schaltvorgänge eine Verbesserung der Aufzeichnungsergebnisse im Chromatogramm erreicht werden.

Die Flächeninhalte der Verteilungskurven wurden mit einem Planimeter bestimmt. Mit Aminosäure-Testlösungen wurden mehrfach Eichkurven geschrieben (Abb. 2)

Die statische Auswertung der gefundenen Werte erfolgte auf Grund folgender Beziehungen (MITTENECKER)

$$M = \frac{(x)}{N}$$

M = Mittelwert
N = Anzahl der gemessenen Werte
(x) = Summe aller Maßzahlen x

$$S = \frac{(x^2)}{N} - M^2$$

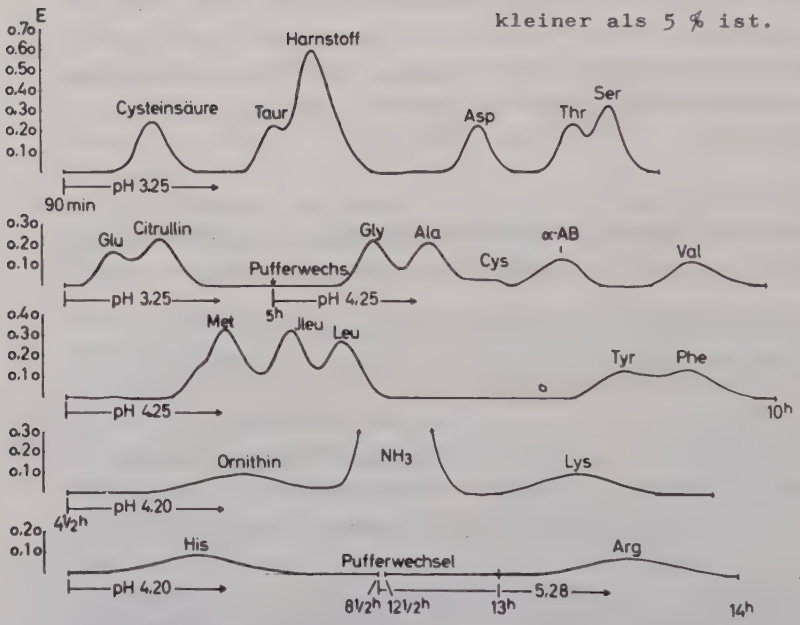
S = Standardabweichung aller Maßzahlen vom Mittelwert = mittlerer Fehler der Einzelmessung

$$SM = \frac{S}{N - 1}$$

SM = Standardabweichung des Mittelwertes, Maß für die Streuung der Mittelwerte

$$t = \frac{M_2 - M_1}{SM_2^2 + SM_1^2}$$

t = Verhältnis der Differenz der Mittelwerte zum mittleren Fehler dieser Differenz. t-Werte gelten für biologische Experimente als signifikant, wenn die Zufallswahrscheinlichkeit kleiner als 5 % ist.



Chromatogramm einer synthetischen Aminosäuremischung

Abbildung 2: Chromatogramm einer synthetischen Aminosäuremischung (10^{-8} Mol jeder Aminosäure wurden aufgetragen, Harnstoff 5 x 10^{-7} Mol)
Ordinate: Extinktion bei 578 mμ
Abszisse: Zeiteinheit (WELGE-LÜSSEN, 1966)

E R G E B N I S S E

Bestimmungen der AS-Konzentrationen wurden durchgeführt an:

6 Normalaugen,
2 Augen mit einer Platinsplitterverweildauer von 1 Tag,
2 Augen mit einer Verweildauer von 2 Tagen.

Für 8 Augen wurde eine Verweildauer von 4 Tagen und für weitere 8 Augen von 28 Augen gewählt, um gesicherte Vergleiche mit Normalaugen und insbesondere Vergleiche mit Resultaten früherer Kupfer- und Eisenimplantationen anstellen zu können.

16 von 20 operierte Augen zeigten innerhalb von 1 - 2 Tagen eine Verlagerung des Splitters nach basal. In der Glaskörperumgebung waren bei diesen Augen zarte graue Infiltrate sichtbar, die sich aber etwa bis zum 7. postoperativen Tag wieder zurückbildeten. Zu diesem Zeitpunkt konnte man bei einigen Augen mit Basalverlagerung des Splitters eine stärkere Pigmentation der Netzhaut in einem Fall auch mit scholliger Zeichnung der Netzhaut ausmachen.

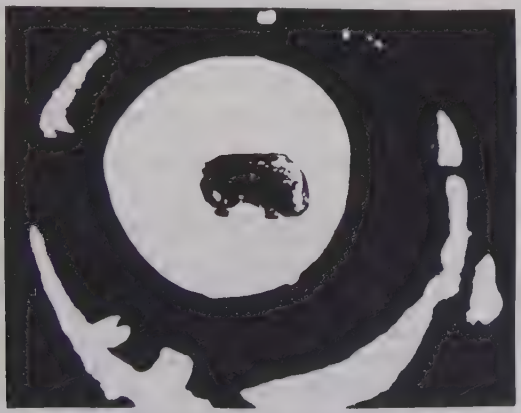


Abbildung 3: Intravitrealer Pt-Splitter in reaktionsloser Umgebung am 4. postoperativen Tag

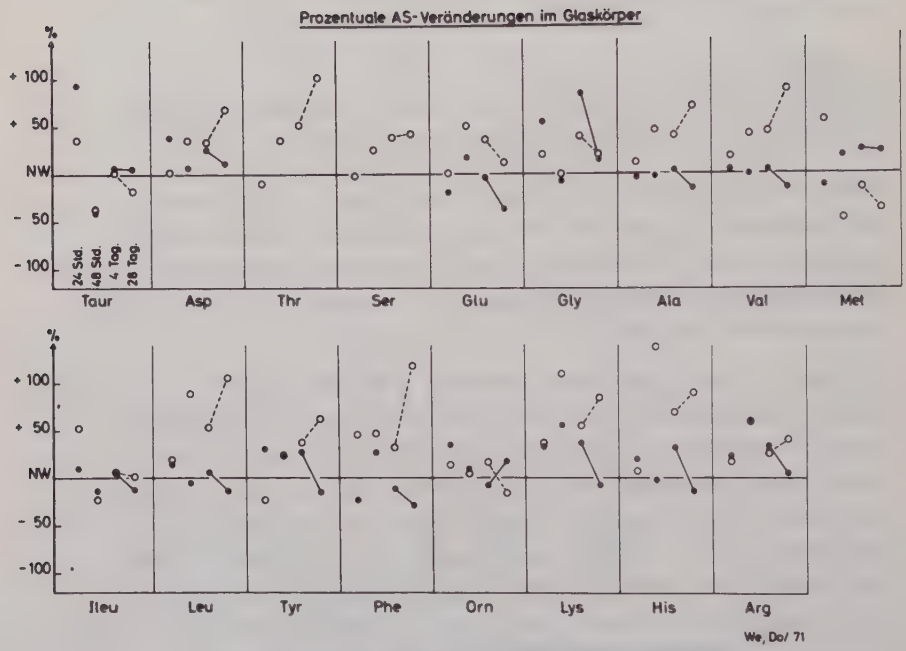


Abbildung 4: Prozentuale Abweichung von Mittelwerten der angegebenen AS im Glaskörper von Kaninchen nach intravitrealer Einpflanzung eines Pt-Splitters mit einer Verweildauer von 24 Std., 48 Std., 4 Tagen und 28 Tagen. Als Bezugsgröße (MW) dienten die in sechs gesunden Augen gefundenen Werte.

. AS vor Hydrolyse des Perchloratextraktes
o AS nach Hydrolyse des Perchloratextraktes

An jedem Auge wurden Perchloratextrakt des Glaskörpers sowie des Kammerwassers, jeweils vor und nach saurer Hydrolyse, untersucht.

Die Normalwerte freier AS bewegten sich im Glaskörper zwischen 0,5 (Asp) und 7,5 . 10^{-8} Mol/Gramm, wobei diese aus jeweils 6 Augen gebildeten Mittelwerte eine Streubreite (Sm) von 0,08 bis 1,97 aufweisen.

Vom Normalwert weicht nach 1-tägiger Pt-Einlegung Taurin mit + 100 % am stärksten ab. Glycin nimmt nur um die Hälfte zu, während alle weiteren gemessenen AS gering oberhalb bzw. unterhalb ihrer Normalwerte bleiben.

Nach 2 Tagen bewegen sich Taurin und Glycin im Normalbereich, während Lysin und Arginin auf + 50 % angestiegen sind (Abb. 4).

Statistisch berechnet wurden die Abweichungen nach 4 bzw. 28 Tagen Verweildauer (Abb. 5).

Nach 4 Tagen wird ein Anstieg von Glycin um + 85 %, Lysin + 38 % und Arginin + 34 % festgestellt, hierfür ist die Irrtumswahrscheinlichkeit 5 %.

Nach 28 Tagen lassen sich keine signifikanten Abweichungen von Normalwerten feststellen, auch die drei vorgenannten AS sind wieder in den Normbereich abgefallen.

Die Normalwerte nach saurer Hydrolyse im Glaskörper liegen etwa doppelt so hoch wie die freier AS, und zwar zwischen 2,4 und 33,2 . 10^{-8} Mol/g.

Hier zeigen sich nach 1 Tag Anstiege um + 50 % bei Methionin, Isoleucin und Phenylalanin.

Am 2. Tag fallen Met und Illeu wieder ab, während nun Glutaminsäure, Alanin, Phenylalanin und Arginin

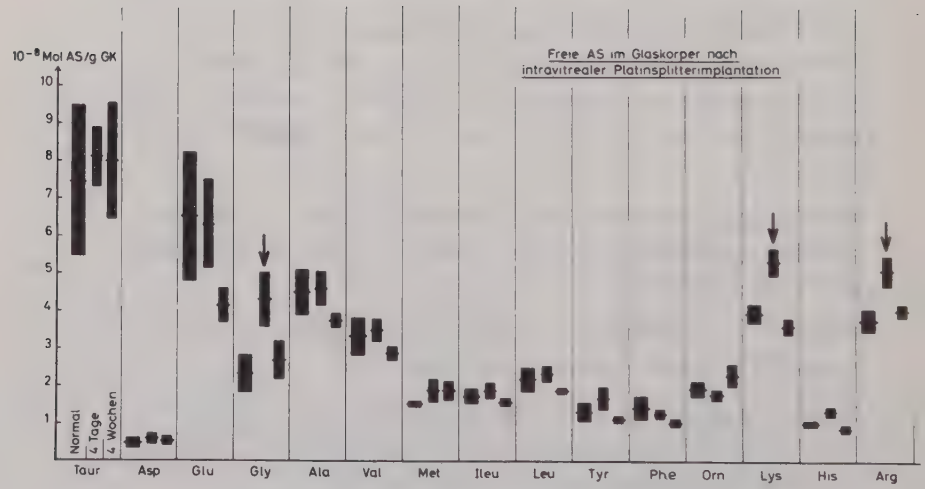


Abbildung 5: Mittelwerte und Streubreiten (Sm freier AS im Perchloratextrakt normaler Glaskörper sowie nach 4- bzw. 28-tägiger Pt-Splitterverweildauer. Signifikante Abweichungen von Mittelwerten (Normal) 6 gesunder Augen sind durch Pfeil gekennzeichnet.

Abszisse: Symbole der Aminosäuren
Ordinate: Konzentration der AS in 10^{-8} Mol/g GK

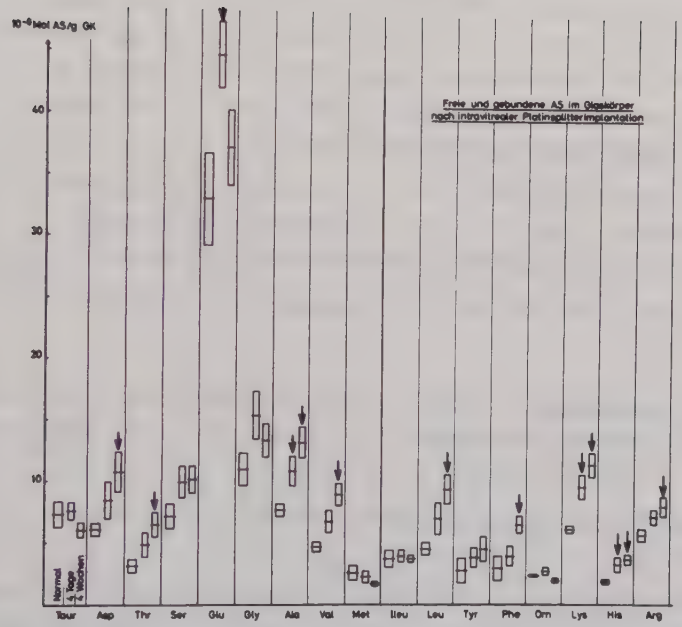


Abbildung 6: Mittelwerte und Streubreiten (Sm) freier und gebundener AS im Perchloratextrakt normaler Glaskörper sowie nach 4- bzw. 28-tägiger Pt-Splitterverweildauer. Signifikante Abweichungen von Mittelwerten (Normal) 6 gesunder Augen sind durch Pfeil gekennzeichnet.

Abszisse: Symbole der Aminosäuren
Ordinate: Konzentration der AS in 10^{-8} Mol/g GK

im Bereich von + 50 % liegen, und Leucin, Lysin und Histidin ihre Normalwerte um etwa 100 % überschreiten (Abb. 4).

Nach 4-tägiger Pt-Einwirkung weisen Glutaminsäure (+ 35 %), Alanin (+ 41 %), Lysin (+ 56 %) und Histidin (+ 69 %) signifikante Konzentrationserhöhungen auf, die sich für Alanin, Lysin und Histidin auch nach 28 Tagen bestätigen lassen (Abb. 6).

Zu diesem Zeitpunkt sind zusätzlich Asparaginsäure, Threonin, Valin, Leucin, Phenylanin und Arginin signifikant gegenüber Normalwerten angestiegen.

Hierbei bewegen sich die Anstiege zwischen + 68 % und + 119 %.

Im Kammerwasser liegen die AS-Konzentrationen in ihren Normalwerten durchschnittlich etwa 4 - 5 mal höher als im Glaskörper vor:

Normalwerte freier AS bewegen sich hier zwischen 3,8 und 55,6 $\cdot 10^{-8}$ Mol/g.

Nach 1 tägiger Verweildauer eines Platinsplitters zeigen sich keine wesentlichen Abweichungen von der Norm, ebensowenig nach 2 tägiger Verweildauer (Abb. 7).

Nach 4 Tagen nehmen Gly von 42,07 auf 65,1 . 10^{-8} Mol/g und His von 9,3 auf 11,37 . 10^{-8} Mol/g zu. Die Differenz konnte statistisch gesichert werden.

Jedoch haben sich nach 28 Tagen diese AS ihren Normwerten wieder angeglichen.

Die Normalwerte der gesamten AS (auch wieder etwa doppelt so hoch wie die der freien) liegen zwischen 5,9 und 104,4 . 10^{-8} Mol/g.

Nach einem Tag weicht lediglich Methionin mit + 67 % erwähnenswert von der Norm ab, während sich nach

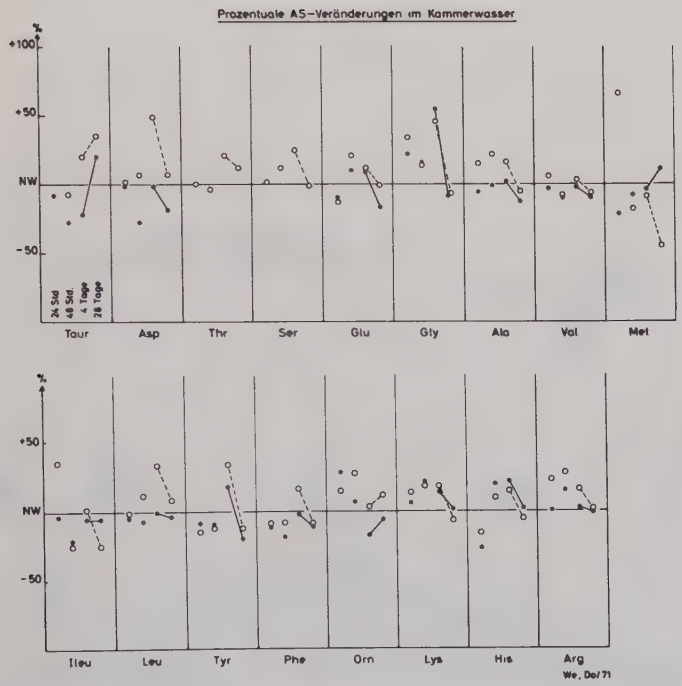


Abbildung 7: Prozentuale Abweichung von Mittelwerten der angegebenen AS im Kammerwasser nach intravitrealer Einpflanzung eines Pt-Splitters mit einer Verweildauer von 24 Std., 48 Std., 4 Tagen und 28 Tagen. Als Bezugsgröße (MW) dienten die in 6 gesunden Augen gefundenen Werte.

. AS vor Hydrolyse des Perchloratextraktes
o AS nach Hydrolyse des Perchloratextraktes

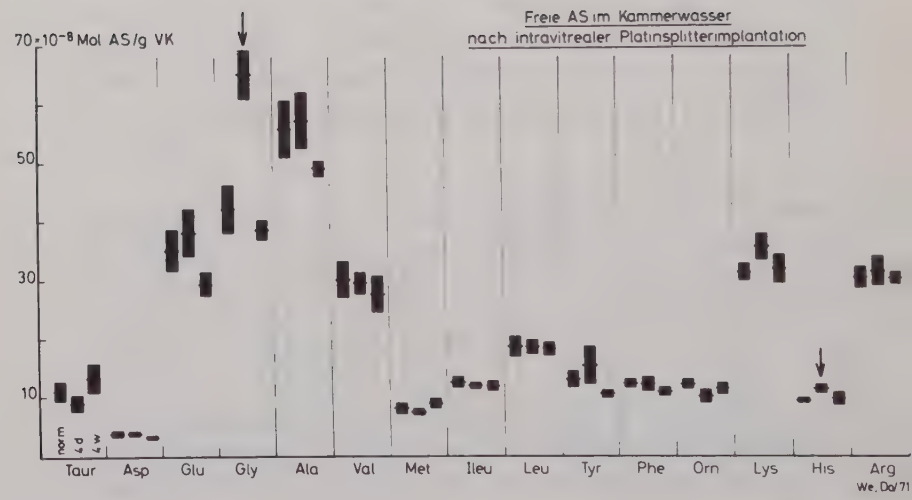


Abbildung 8: Mittelwerte und Streubreiten (Sm) freier AS im Perchloratextrakt des Kammerwassers normaler Augen sowie nach 4- bzw. 28-tägiger Pt-Splitterverweildauer. Signifikante Abweichungen von Mittelwerten (Normal) 6 gesunder Augen sind durch Pfeil gekennzeichnet.

Abszisse: Symbole der Aminosäuren
Ordinate: Konzentration der AS in 10^{-8} Mol/g Kammerwasser

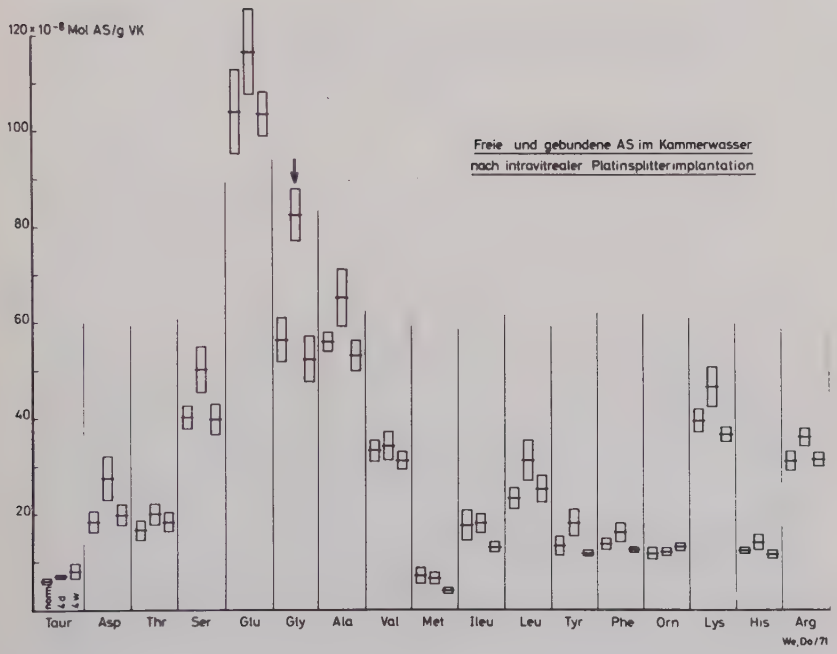


Abbildung 9: Mittelwerte und Streubreiten (Sm) freier und gebundener AS im Perchloratextrakt des Kammerwassers normaler Augen sowie nach 4- bzw. 28-tägiger Pt-Splitterverweildauer. Signifikante Abweichungen von Mittelwerten (Normal) 6 gesunder Augen sind durch Pfeil gekennzeichnet.

Abszisse: Symbole der Aminosäuren
Ordinate: Konzentration der AS in 10^{-8} Mol/g Kammerwasser

2 Tagen Pt-Einwirkung die Werte aller gesamten AS im Normalbereich bewegen.

Nach 4 tägiger Einwirkung zeigt dann Glycin (+ 46 %) als einzige AS einen signifikanten Anstieg. Veränderungen anderer AS lassen sich nicht signifikant von ihren Normalwerten abgrenzen.

28 Tage nach Operation sind in keinem Fall signifikante Abweichungen von der Norm zu erheben (Abb. 9).

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Wir stellten im Kammerwasser bei den AS in freier Form für Gly und His am vierten Tag signifikante Erhöhungen fest, - bei den gesamten AS zum gleichen Zeitpunkt lediglich für Gly. Eine Überprüfung der Zahlen zeigt jedoch, daß die Erhöhung von Gly bei den gesamten AS lediglich der Konzentrationserhöhung von Gly in freier Form zuzuschreiben ist, da der Anstieg von Normalwerten bei beiden mit + 26.5 bzw. 23.0 . 10^{-8} Mol nahezu identisch und nicht signifikant voneinander abzugrenzen ist.

Die einzige Konzentrationserhöhung von Aminosäuren im Kammerwasser ist also eine Erhöhung der freien AS Gly + 55 % und His + 22 % am 4. Tag p. Op.

Da es sich um rückläufige Bewegungen handelt, liegt der Schluß nahe, daß ein Zusammenhang mit dem abklingenden Operationstrauma vorliegt. Ähnliche Feststellungen machte PAPPAS 1959, als er kolloidale Partikel beim Kaninchen i.v. verabreichte und elektronenmikroskopisch beim Übertritt ins Kammerwasser verfolgte.

Es kam zu einer Steigerung der Partikelpassage wenn das Auge traumatisiert wurde. Entsprechende histologische Veränderungen beobachtete ROHEN an den vorderen Anteilen der Ciliarfortsätze. Es kam zu interstitiellem Ödem, Hyperämie, Dehiszenzen, Zellabhebungen, Diapedesen und Eiweißaustritt. Außerdem stellte HOLMBERG 1959 auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen eine auffallend dünne Wandung der Kapillaren der Ciliarfortsätze fest. Legt man nun die 1961 von REDDY, ROSENBERG und KINSEY gefundenen Konzentrationen freier AS im Plasma und Kammerwasser des Kaninchen zugrunde, so fällt auf, daß

Gly normalerweise im Plasma 4-fach höher konzentriert ist als im Kammerwasser (die meisten anderen AS werden gerade umgekehrt im Kammerwasser erhöht angegeben). Es liegt also nahe, die Ursache des Gly-Anstieges (+ 55 %) im Kammerwasser in einem erhöhten passiven Durchtritt der freien AS durch die Blut-Kammerwasser-Schranke zu sehen. Die Zunahme von His im Kammerwasser ist mit dem Ausgleich eines Konzentrationsgradienten nicht zu erklären, da diese AS im Kammerwasser die höhere Konzentration (REDDY) aufweist.

Doch ist die Bewegung am 4. Tag hier auch nicht so deutlich (+ 22 %).

Im Glaskörper erscheint uns wichtig, daß die bei drei AS in freier Form am 4. postop. Tag festgestellte signifikante Konzentrationserhöhung nach 28 Tagen wieder in den Normalbereich abfällt.

Demgegenüber zeigen vier AS nach Hydrolyse 4 Tage nach Splittereinwirkung signifikante Konzentrationserhöhungen und so weitere Anstiege bis zum Ende der Versuchsdauer. Zusätzlich kommen zu diesem Zeitpunkt bei 6 weiteren Aminosäuren signifikante Erhöhungen hinzu. Lediglich Glutaminsäure macht hiervon eine Ausnahme, indem es wieder in den Normbereich abfällt.

Die Veränderungen bei den freien AS im Glaskörper zeigen also mit den Anstiegen am 4. Tag und anschließender Normalisierung eine gewisse Ähnlichkeit mit denen im Kammerwasser. Auch sie ließen sich in ihrem Ablauf als Antwort auf das Operationstrauma deuten. Der Mechanismus:
Störung der Blut-Glaskörper-Schranke könnte hier analog die Hauptrolle spielen, zumal aufgrund der erheblich niedrigeren Normalkonzentrationen von AS im Glaskörper ein entsprechendes Gefälle vorliegt. Interessant ist,

daß hier, neben Gly, mit Lysin und Arginin zwei basische AS erhöht sind. Als Diaminomonocarbonsäuren können sie infolge ihres Ladungszustandes eine hohe Affinität zu den Hyaluronsäure-Kettenmolekülen besitzen. Da diese mit ihren negativ geladenen Carboxylgruppen ein sehr hohes elektrostatisches Potential aufbauen, sind sie in der Lage, besonders Moleküle mit positiven Ladungen zu binden (BALAZS).

Ein auffallend andersartiges Verhalten zeigen nun aber die gesamten AS im Glaskörper. Am 4. postoperativen Tag festzustellende Anstiege setzen sich weiter fort, und neue kommen hinzu.

Die einzige Ausnahme bildet Glutaminsäure, die nach 4 Wochen wieder in den Normbereich abgefallen ist.

Hierfür ist eine Deutung sehr schwer, denn das Operationstrauma dürfte nach 4 Wochen abgeklungen sein. Eine Wirkung aufgrund besonderer chemischer Eigenschaften des Splitters ist zu verneinen, da Platin in reiner Form keine Reaktionen eingeht. Es können also nur mechanische Vorgänge sein, die die genannten Verläufe hervorgerufen haben. Diese Vorgänge sind offensichtlich nach 4 Wochen noch nicht abgeschlossen, wenn man auch sagen muß, daß das Ausmaß der Konzentrationserhöhung nach 4 Wochen mit + 68 % bis + 119 % nicht sehr groß ist. Als Irritationsmechanismus ist sicherlich eine mechanische Beeinträchtigung der Hyalozyten denkbar, deren freigewordener Enzymgehalt eine lokale Proteolyse herbeiführen könnte. Hiermit würde z.B. der Anstieg essentieller AS wie Lys am 4. und 28. Tag und Val, Leu, Thr, Phe am 28. Tag zu vereinbaren sein. Auch ist die meist erfolgte Verlagerung des Splitters von seiner temporal oben gelegenen Eintrittsstelle nach basal nur durch eine umschriebene Zerstörung der Gewebsstruktur vorstellbar.

So konnten LIESENHOFF und SAHM durch rotierende Rührstäbe eine Glaskörper-Verflüssigung herbeiführen, wenn sich auch das mechanische Trauma (4000 U/min über 10 min) in ganz anderen Dimensionen bewegte. Auch ist bekannt, daß beispielsweise durch Ultraschall Depolymerisationsvorgänge an Hyaluronsäuremolekülen hervorgerufen werden können (ZEISS).

Wenn man die in Vorderkammer und Glaskörper eingetretenen Veränderungen quantitativ richtig beurteilen will, können vorher von WELGE-LÜSSEN und OPPERMANN sowie WELGE-LÜSSEN und MÖSSINGER mit Kupfer bzw. Eisen durchgeführte Versuchsserien zum Vergleich herangezogen werden. Im Kammerwasser lagen hier die Konzentrationszunahmen freier und gesamter AS bei intravitrealem Cu-Splitter meist bei + 100 %, bei Fe stiegen nur Asp und His signifikant an. Die Ergebnisse der Eisen- bzw. Platin-Versuchsserie weichen im Kammerwasser also nicht sehr voneinander ab. Deutlicher liegen die Unterschiede der drei Versuchsserien: Cu-, Fe-, Pt-Fremdkörper im Glaskörper-Gewebe. Ein Vergleich der Mittelwerte gesamter AS nach 4-wöchiger Verweildauer der Splitter zeigt, daß es nach Pt-Einwirkung bei Asp, Thr, Ala, Val, Leu, Phe, Lys, Arg zu Anstiegen um 68 % bis 119 % kommt, während bei Eiseneinwirkung Anstiege um 200 bis 300 % vorlagen. Die Größenordnung bei Kupferintoxikation lag noch um etwa 100 % höher, bei Lys und Arg ergaben sich sogar Steigerungen um 700 bzw. 836 %. Statistische Vergleiche dieser 3 Untersuchungsserien sind wegen des unterschiedlichen Zahlenmaterials nicht möglich.

Die Ergebnisse der Arbeit lassen daher den Schluß zu, daß der von uns verwendete inerte Fremdkörper auf mechanischem Wege im Glaskörper zu nicht sehr ausgeprägten Veränderungen des AS-Musters geführt hat. Demgegenüber erscheint nunmehr gesichert, daß die vorher von

WELGE-LÜSSEN und OPPERMANN bzw. und MÖSSINGER gefundenen erheblichen AS-Anstiege auf Kupfer- bzw. Eisenfremdkörper als hauptsächlich durch deren chemisch-toxische Wirkung bedingt angesehen werden können.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Nach einem Überblick über die Entwicklung der Chromatographie wird im besonderen auf die Elutionschromatographie eingegangen, die den Vorzug einer exakten quantitativen Auswertung besitzt. Es werden die besonderen anatomischen und biochemischen Verhältnisse von Glaskörper und Vorderkammer dargestellt. In Vorarbeiten zeigten sich nach Einbau intravitrealer Cu- und Fe-Splitter Änderungen im Aminosäurestoffwechsel.
Einer Serie von Kaninchenaugen werden Splitter aus chemisch reinem Platin von 35 ± 1 mg Gewicht (ca. 1,5 x 2,3 x 0,5 mm) intravitreal implantiert. Im Perchloratextrakt des Glaskörpers und des Kammerwassers werden 17 Aminosäuren (AS), vor und nach saurer Hydrolyse, nach 1-, 2-, 4- und 28-tägiger Verweildauer bestimmt. Die Analysen werden mit einer früher beschriebenen Apparatur durchgeführt, die durch Automatisierung weiterentwickelt werden konnte. Im Kammerwasser kommt es am 4. Tag nur zu signifikanten Konzentrationsänderungen der freien AS Glycin und Histidin. Diese Anstiege lassen sich am 28. Tag nicht mehr nachweisen. In ähnlicher Weise steigen am 4. postop. Tag im Glaskörper die freien As Gly, Lys und Arg signifikant an. Auch sie haben jedoch nach 28-tägiger Verweildauer des Pt-Splitters ihre Normalwerte wieder erreicht. Die beschriebenen Konzentrationsbewegungen freier AS in Kammerwasser und Glaskörper werden als Auswirkungen des Operationstraumas gedeutet und mit Veränderungen der Blut-Kammerwasser- bzw. Blut-Glaskörper-Schranke in Zusammenhang gebracht. Demgegenüber setzen die AS nach saurer Hydrolyse (freie und gebundene AS) im Glaskörper ihre Konzentrationserhöhungen vom 4. bis zum 28. Tag bis auf Glutaminsäure weiter

fort. Diese Veränderungen möchten wir als Hinweis auf die mechanische Irritation durch den intravitrealen Splitter deuten. Insgesamt erweisen sich die Konzentrationsbewegungen der AS in Glaskörper und Kammerwasser deutlich geringer als die durch Cu und Fe verursachten.

	Normalaugen (6 GK)		1 Tag (2 GK)		2 Tage (2 GK)		4 Tage (8 GK)			4 Wochen (8 GK)		
	M	Sm	M	%	M	%	M	Sm	%	M	Sm	%
Taurin	7.47	1.97	14.51	+ 94	4.41	- 41	8.13	0.81	+ 9	7.99	1.56	+ 7
Asparaginsäure	0.50	0.13	0.69	+ 38	0.54	+ 8	0.63	0.14	+ 26	0.56	0.10	+ 12
Glutaminsäure	6.54	1.68	5.22	- 20	7.77	+ 19	6.33	1.18	- 3	4.17	0.45	- 36
Glycin	2.35	0.53	3.64	+ 55	2.19	- 7	4.34	0.70	+ 85	2.68	0.49	+ 14
Alanin	4.46	0.60	4.30	- 4	4.41	- 1	4.60	0.46	+ 3	3.77	0.21	- 15
Valin	3.34	0.53	3.56	+ 7	3.35	± 0	3.48	0.30	+ 4	2.87	0.19	- 14
Methionin	1.50	0.08	1.33	- 11	1.81	+ 21	1.90	0.32	+ 27	1.87	0.25	+ 25
Isoleucin	1.77	0.19	1.96	+ 11	1.55	- 12	1.88	0.19	+ 6	1.56	0.08	- 12
Leucin	2.20	0.32	2.54	+ 15	2.11	- 4	2.30	0.17	+ 5	1.91	0.07	- 13
Tyrosin	1.34	0.24	1.76	+ 31	1.65	+ 23	1.70	0.30	+ 27	1.15	0.11	- 14
Phenylalanin	1.46	0.33	1.14	- 22	1.84	+ 26	1.29	0.12	- 12	1.05	0.08	- 28
Ornithin	1.94	0.18	2.62	+ 35	2.14	+ 10	1.78	0.16	- 8	2.28	0.30	+ 18
Lysin	3.87	0.23	5.18	+ 34	6.11	+ 58	5.34	0.36	+ 38	3.58	0.18	- 7
Histidin	1.01	0.11	1.22	+ 21	1.00	- 1	1.34	0.13	+ 33	0.87	0.10	- 14
Arginin	3.76	0.32	4.69	+ 25	6.00	+ 60	5.04	0.38	+ 34	3.99	0.14	+ 6

Tabelle 1: Aminosäurekonzentrationen im Glaskörper von normalen Augen und operierten (1, 2, 4 u. 28 Tage p.Op.) in 10^{-8} Mol/g
Gegenüberstellung der Mittelwerte und ihrer Streuung im enteiweißten GK vor saurer Hydrolyse
% = prozentuale Abweichung der Mittelwerte operierter Augen gegenüber den durchschnittlichen Konzentrationen normaler Augen.

	Normalaugen (6 GK)		1 Tag (2 GK)		2 Tage (2 GK)		4 Tage (8 GK)			4 Wochen (8 GK)		
	M	Sm	M	%	M	%	M	Sm	%	M	Sm	%
Taurin	7.42	1.05	10.14	+ 37	4.79	- 35	7.65	0.73	+ 3	6.09	0.66	- 18
Asparaginsäure	6.14	0.54	6.29	+ 2	8.67	+ 35	8.54	1.49	+ 33	10.80	1.6o	+ 68
Threonin	3.19	0.45	2.87	- 10	4.31	+ 35	4.90	0.93	+ 54	6.50	0.94	+104
Sorin	7.21	1.03	7.13	- 1	9.09	+ 26	10.02	1.29	+ 39	10.20	1.13	+ 41
Glutaminsäure	33.16	3.76	33.34	+ 1	49.79	+ 50	44.87	2.68	+ 35	37.33	3.09	+ 13
Glycin	11.05	1.36	13.32	+ 21	10.99	- 1	15.45	1.92	+ 40	13.41	1.35	+ 21
Alanin	7.73	0.54	8.73	+ 13	11.33	+ 47	10.90	1.21	+ 41	13.25	1.26	+ 71
Valin	4.75	0.40	5.62	+ 18	6.74	+ 42	6.84	0.93	+ 44	8.97	0.86	+ 89
Methionin	2.62	0.61	4.12	+ 57	1.41	- 46	2.26	0.48	- 14	1.69	0.21	- 35
Isoleucin	3.77	0.75	5.77	+ 53	2.95	- 22	4.03	0.50	+ 7	3.83	0.32	+ 2
Leucin	4.60	0.54	5.56	+ 21	8.72	+ 90	7.12	1.29	+ 55	9.54	1.25	+107
Tyrosin	2.80	1.05	2.17	- 22	3.48	+ 24	3.88	0.79	+ 39	4.59	0.99	+ 63
Phenylalanin	3.00	1.03	4.35	+ 45	4.38	+ 46	3.98	0.84	+ 33	6.58	o.73	+119
Ornithin	2.40	0.12	2.73	+ 14	2.52	+ 5	2.79	0.26	+ 16	2.01	0.18	- 16
Lysin	6.23	0.31	8.49	+ 36	13.12	+111	9.71	1.06	+ 56	11.48	0.98	+ 84
Histidin	1.94	0.23	2.09	+ 8	4.65	+140	3.28	0.56	+ 69	3.71	0.38	+ 91
Arginin	5.69	0.47	6.80	+ 20	9.15	+ 61	7.22	0.59	+ 27	8.06	0.76	+ 42

Tabelle 2: Aminosäurekonzentrationen im Glaskörper von normalen Augen und operierten (1, 2, 4 u. 28 Tage p.Op.) in 10^{-8} Mol/g
Gegenüberstellung der Mittelwerte und ihrer Streuung im enteiweißten GK nach saurer Hydrolyse
% = prozentuale Abweichung der Mittelwerte operierter Augen gegenüber den durchschnittlichen Konzentrationen normaler Augen.

	Normalaugen (6 GK		1 Tag (2 GK)		2 Tage (2 GK)		4 Tage (8 GK)			4 Wochen (8 GK)		
	M	Sm	M	%	M	%	M	Sm	%	M	Sm	%
Taurin	10.98	1.64	10.12	- 8	8.00	- 27	8.64	1.17	- 21	13.20	2.47	+ 20
Asparaginsäure	3.81	0.51	3.77	- 1	2.75	- 28	3.76	0.37	- 1	3.10	0.44	- 19
Glutaminsäure	35.05	3.47	31.65	- 10	38.74	+ 11	38.20	4.12	+ 9	29.25	2.13	- 17
Glycin	42.07	4.20	51.23	+ 22	49.01	+ 16	65.10	4.10	+ 55	38.61	1.54	- 8
Alanin	55.59	4.83	52.18	- 6	55.22	- 1	56.98	4.80	+ 3	49.08	1.34	- 12
Valin	30.28	2.97	29.28	- 3	27.56	- 9	29.58	1.73	- 2	27.74	3.00	- 8
Methionin	7.86	1.09	6.17	- 22	7.20	- 8	7.51	0.46	- 4	8.74	0.92	+ 11
Isoleucin	12.37	0.94	12.01	- 3	9.80	- 21	11.80	0.51	- 5	11.77	0.71	- 5
Leucin	18.51	1.71	17.68	- 4	17.23	- 7	18.44	1.12	± 0	18.04	1.08	- 3
Tyrosin	12.82	1.39	11.83	- 8	11.64	- 9	15.21	3.27	+ 19	10.42	0.52	- 19
Phenylalanin	12.12	0.73	10.74	- 11	9.94	- 18	11.96	1.29	- 1	10.82	0.63	- 11
Ornithin	11.95	0.79	15.45	+ 29	12.85	+ 8	9.99	1.04	- 16	11.29	0.79	- 6
Lysin	31.04	1.39	33.06	+ 7	37.67	+ 21	35.40	2.18	+ 14	31.72	2.32	+ 2
Histidin	9.30	0.44	6.87	- 26	11.18	+ 20	11.37	0.75	+ 22	9.57	1.08	+ 3
Arginin	30.02	1.91	30.23	+ 1	34.61	+ 15	31.12	2.33	+ 4	30.06	1.06	± 0

Tabelle 3: Aminosäurekonzentrationen im Kammerwasser von normalen Augen und operierten (1, 2, 4 u. 28 Tage p.Op.) in 10^{-8} Mol/g
Gegenüberstellung der Mittelwerte und ihrer Streuung im enteiweißten KW vor saurer Hydrolyse

% = prozentuale Abweichung der Mittelwerte operierter Augen gegenüber den durchschnittlichen Konzentrationen normaler Augen.

	Normalaugen (6 GK)		1 Tag (2 GK)		2 Tage (2 GK)		4 Tage (8 GK)			4 Wochen (8 GK)		
	M	Sm	M	%	M	%	M	Sm	%	M	Sm	%
Taurin	5.89	0.63	11.81	+ 100	5.51	- 6	7.03	0.38	+ 19	7.93	1.54	+ 35
Asparaginsäure	18.55	2.20	19.03	+ 2	19.81	+ 7	27.59	4.62	+ 49	19.89	2.19	+ 7
Threonin	16.56	1.95	16.56	± 0	15.86	- 4	20.04	2.23	+ 21	18.51	2.01	+ 12
Serin	40.48	2.44	41.62	+ 2	45.30	+ 12	50.43	4.73	+ 25	40.04	3.23	- 1
Glutaminsäure	104.43	8.60	91.33	- 13	126.45	+ 21	117.13	9.50	+ 12	104.00	4.67	± 0
Glycin	56.83	4.49	75.98	- 34	64.95	+ 14	82.98	5.53	+ 46	52.70	4.91	- 7
Alanin	56.42	2.03	65.06	+ 15	68.89	+ 22	65.60	7.00	+ 16	53.55	3.18	- 5
Valin	33.72	2.31	35.75	+ 6	31.08	- 8	34.63	3.07	+ 3	31.58	1.89	- 6
Methionin	7.50	1.74	12.50	+ 67	6.19	- 17	6.80	1.32	- 9	4.18	0.49	- 44
Isoleucin	18.04	3.20	24.68	+ 37	13.56	- 25	18.46	2.02	+ 2	13.48	0.91	- 25
Leucin	23.48	2.17	23.36	- 1	26.31	+ 12	31.57	4.33	+ 34	25.52	1.71	+ 9
Tyrosin	13.69	2.00	11.72	- 14	12.01	- 12	18.45	2.92	+ 35	12.00	0.61	- 12
Phenylalanin	14.05	1.24	12.69	- 10	12.96	- 8	16.39	1.84	+ 17	12.80	0.50	- 9
Ornithin	11.98	1.12	13.73	+ 15	15.34	+ 28	12.37	0.87	+ 3	13.39	0.84	+ 12
Lysin	39.85	2.53	45.34	+ 14	48.09	+ 21	46.96	4.25	+ 18	37.06	1.51	- 7
Histidin	12.55	0.62	10.62	- 15	13.86	+ 10	14.37	1.59	+ 15	11.92	0.87	- 5
Arginin	31.38	1.89	38.47	+ 23	40.42	+ 28	36.37	1.74	+ 16	31.67	1.45	+ 1

Tabelle 4: Aminosäurekonzentrationen im Kammerwasser von normalen Augen und operierten (1, 2, 4 u. 28 Tage p.Op.) in 10^{-8} Mol/g
Gegenüberstellung der Mittelwerte und ihrer Streuung im enteiweißten KW nach saurer Hydrolyse

% = prozentuale Abweichung der Mittelwerte operierter Augen gegenüber den durchschnittlichen Konzentrationen normaler Augen.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. BALAZS, E.A.:
Die Mikrostruktur und Chemie des Glaskörpers
Ber. dtsch. Ophthal. Ges. 68, 536 (1967)

2. BARANY, E.H.:
The mode of entrance of sodium into the aqueous humour
Acta physiol. scand. 13, 55 (1947)

3. BITO, L.Z., H. DAVSON, E. LEVIN, M. MURRAY, N. SNIDER:
The relationship between the concentrations of amino acids in the ocular fluids and blood plasma of dogs
Exp. Eye Res. 4, 374 (1965)

4. BOYD, G.E., L.S. MYERS jr., A.W. ADAMSON:
The exchange absorptions of ions from aqueous solutions by organic zeolites. Performance on deep absorbent beds under non-equilibrium conditions.
J. Am. Chem. Soc. 69, 2, 2849 (1947)

5. CIBIS, P.A., T. YAMASHITA:
Ocular siderosis and hemosiderosis
Amer. J. of Ophthal. 48, 2, 465 (1959)

6. CLAESSON, S.:
Arkiv Kemi 23, 133 (1946)
zit. n. K. DORFNER: Ionenaustauschchromatographie

7. DAVSON, H.:
The eye second edition, Vol. 1
Academic Press, New York, London 1969

8. DORFNER, K.:
Ionenaustauschchromatographie
Akademie Verlag, Berlin 1963

9. DUKE-ELDER, S.T.:
Textbock of Ophthalmology Vol. 6, 6198,
London, Henry Kimpton 1954

10. FRANKE, E.:
Über Fremdkörper der Vorderkammer und Iris
A.v.Graefes Arch. Ophthal. 30, 211 (1884)

11. GERCK, W.:
Quantitative Bestimmungen der Aminosäuren im Serum bei Erkrankungen der Leber
Dtsch. med. Wschr. 88, 1188 (1963)

12. GRIESSBACH, R.:
Melliands Textilberichte 20, 577 (1939)

13. HANNIG, K.:
Erfahrungen mit der quantitativen Aminosäurebestimmung an Ionenaustauschersäulen und automatischer Registrierung der Ergebnisse
Clin. chem. Acta 4, 51 (1959)

14. HIPPEL, v. E.:
Über Netzhautdegeneration durch Eisensplitter
Ber. dtsch. Ophthal. Ges. 25, 64 (1896)

15. HIPPEL, v. E.:
Über Siderosis Bulbi und die Beziehungen zwischen siderotischer und haematogener Pigmentierung
Ber. dtsch. Ophthal. Ges. 23, 30 (1893)

16. HOLMBERG, A.:
The ultrastructure of the capillaries in the ciliary body
A.M.A. Arch. of Ophthal. 62, 949 (1959)

17. KARLSON, P.:
Kurzes Lehrbuch der Biochemie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1966

18. KIRSTEN, E., R. KIRSTEN:
Analytische Chromatographie von Aminosäuren in der Größenordnung des Nanomols
Biochem. Z. 339, 287 (1964)

19. LEBER, Th.:
Beobachtungen über die Wirkung ins Auge eingedrungener Metallsplitter
A.v.Graefes Arch. Ophthal., 30, 243 (1884)

20. LIESENHOFF, H., M. SAHM:
Tierexperimentelle Untersuchungen über die mechanische Verflüssigung des Glaskörpers
Ber. dtsch. Ophthal. Ges. 68, 170 (1968)

21. LINNEWEH, F., W. BARTHELMAI, G. WENSKE:
Über Erfahrungen mit der vollautomatischen Aminosäuren-Analyse im Ultra-Mikrobereich
Klin. Wschr. 47, 971 (1969)

22. MIELKE, S.:
Das Verhalten verschiedener Legierungen des Aluminiums im Auge
Ber. dtsch. Ophthal. Ges. 53, 118 (1940)

23. MOORE, S., W.H. STEIN:
Chromatographie of Amino Acids on Sulfonated Polystyrene Resins
J. Biol. Chem. 192, 663 (1951)

24. NEUBAUER, H.:
Der intraokulare Fremdkörper
Ber. dtsch. Ophthal. Ges. 67, 297 (1965)

25. NEUBAUER, H., W. BÖS:
Chalcosis corporis vitrei
Ber. dtsch. Ophthal. Ges. 68, 98 (1967)

26. PAPPAS, G.D., G.K. SMELSER, P.W. BRANDT:
Studies on the ciliary epithelmium and zonule
A.M.A. Arch. of Ophthal. 62, 959 (1959)

27. PIRIE, A., R.v. HEYNINGEN:
Biochemistrie of the eye
Oxford Blackwell Scientific Publications
239 (1956)

28. REDDY, D.V.N., C. ROSENBERG, V.E. KINSEY:
Steady state distribution of free amino acids in the aqueous humours, vitreous body and plasma of the rabbit
Exp. Eye Res. 1, 175 (1961)

29. ROHEN, J.W.:
Das Auge und seine Hilfsorgane.
Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen
Bd. 3, Haut und Sinnesorgane, 4. Teil
Springer Verlag, Berlin 1964

30. ROPER-HALL, M.J.:
"Injuries" in Modern Ophthalmology
Vo. 2, 647, London Butterworths 1963, edit. by A. SORSBY

31. SPACKMANN, D.H., W.H. STEIN, S. MOORE:
Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids
Analyt. Chem. 30, 1190 (1958)

32. STEIN, W.H., S. MOORE:
The free amino acids of human blood plasma
J. Biol. Chem. 211, 915 (1954)

33. TISELIUS A.:
Arkiv Kemi, Mineral. Geol. 14 B, No 22
1940 zit. n. K. DORFNER: Ionenaustausch-chromatographie

34. TOMPKINS, E.R., J.X. KHYM, W.E. COHN:
Ion exchange as a separations method. I. The separation of fission-produced radioisotopes, including individual rare earths, by complexing elution from Amberlite resin
J. Am. Chem. Soc. 69, 2769 (1947)

35. TSWETT, M.:
Physikalisch-chemische Studien über das Chlorophyll. Die Adsorptionen
Ber. dtsch. bot. Ges. 24, 316 (1906)

36. WEIGELIN, S.:
Über Fremdkörperverletzungen des Auges im Kriege
Klin. Mtbl. f. Augenh. 59, 84 (1917)

37. WELGE-LÜSSEN, L.:
Elutionschromatographische Aminosäure-untersuchungen im Glaskörper
Ber. dtsch. Ophthal. Ges. 68, 102 (1967)

38. WELGE-LÜSSEN, L., W. OPPERMANN:
Veränderungen des Aminosäurespektrums im Kaninchenauge durch metallisches Kupfer
Ber. dtsch. Ophthal. Ges. 69, 465 (1968)

39. WELGE-LÜSSEN, L., W. OPPERMANN:
Aminosäurebestimmungen an Einzelaugen im Glaskörper und Kammerwasser
A.v.Graefes Arch. 117, 364 (1969)

40. WELGE-LÜSSEN, L., V. MÖSSINGER:
Einfluß von intraocularen Eisenfremdkörpern auf den Aminosäuregehalt
Ber. dtsch. Ophthal. Ges. 70, 388 (1969)

41. ZEISS, E.:
Über Linsenveränderungen an herausgenommenen Rinderlinsen durch Ultraschalleinwirkung
A.v.Graefes Arch. Ophthal. 139, 301 (1938)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. L. Welge-Lüssen für die Themenstellung und seine Hilfe bei der Einführung in die Methodik und Herrn Prof. Dr. med. W. Straub sowie Herrn Prof. Dr. med. M. Reim für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in der Universitäts-Augenklinik.

Ebenso danke ich Frau M. Ursprung sowie Herrn H. Prochazka für die bereitwillige Hilfe bei den Tierexperimenten und die Anfertigung der Zeichnungen und Photos.

L e b e n s l a u f

Am 22. Oktober 1944 wurde ich als Sohn des Studienrates Erich Domeier und seiner Ehefrau Edith, geb. Detmering in Minden geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule war ich Schüler des Staatl. Altsprachlichen Gymnasiums und des Staatl. Besselgymnasiums Minden, an dem ich 1964 die Reifeprüfung ablegte.

In den folgenden zwei Jahren war ich Zeitsoldat der Bundeswehr, die ich als Leutnant d.R. verließ.

Im Sommersemester 1966 begann ich das Medizinstudium an der Philipps-Universität Marburg/Lahn. Nach zwei Semestern bestand ich das Vorphysikum und nach drei weiteren Semestern die ärztliche Vorprüfung. Am 12. Dezember 1971 legte ich in Marburg vor dem Prüfungsausschuß der Medizinischen Fakultät das Staatsexamen ab.

VERZEICHNIS DER AKADEMISCHEN LEHRER

Meine akademischen Lehrer an der Philipps-Universität Marburg waren die Herren Professoren und Dozenten:

Beckmann, Berendes, Bommer, Braasch, Brück, Buchholz, Dimroth, Dölle, Exner, Friederich, Golenhofen, Graul, Hamelmann, Hamm, Hardewig, Hess, Hensel, Heuser, Hildebrandt, Hohorst, Hort, Hupe, Jacob, Kamke, Karlson, Kessel, Koransky, Korb, Kreutz, Linneweh, Lübbers, Lütcke, Mahr, Mann, Martini, Mattes, Nultsch, Petry, Pots, Reim, Rodeck, Rohen, Schiff, Schleyer, Schmid, Schmitz-Moormann, Seidel, F., Seidel, W., Siegert, v. Stosch, Straub, Strohmeyer, Vogell, Vogt, Voß, Walcher, Zilliken.